

Perbandingan Afinitas dan Urutan Asam Amino *Penicillin Binding Protein 2a* pada *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* secara *in silico*

Yorda Liosa Aditama, Sasi Purwanti, Hardadi Airlangga*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) memiliki protein reseptor *Penicillin binding protein 2a* (PBP2a) yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik penicillin. *Staphylococcus aureus* diketahui juga memiliki PBP2a, tetapi masih sensitif terhadap antibiotik. *Penicillin binding protein 2a* antara *Staphylococcus aureus* dan MRSA diduga terdapat perbedaan urutan asam amino. Penelitian tentang perbandingan afinitas dan urutan asam amino belum pernah dilakukan sehingga perlu diteliti untuk mempelajari penyebab resistensi lebih dalam.

Metode: Penelitian deskriptif dengan teknik *Multiple Sequence Alignment (in silico)* dan *Molecular docking* menggunakan aplikasi *Jalview 2.11.1.3* tahun 2020 dan *website dockingserver.com*. Hasil ditabulasi dan dianalisa dengan perbandingan sederhana untuk melihat perbedaan urutan asam amino dan afinitas.

Hasil: Urutan asam amino *Staphylococcus aureus* dan MRSA memiliki kemiripan 96,1% dan perbedaan 3,9% yang diduga karena mutasi. Selain itu, *molecular docking* 18 antibiotik dengan PBP2a menghasilkan afinitas terbaik pada daptomycin, vancomycin dan terburuk pada doxycycline. Tingkat afinitas 15 antibiotik sisanya berada diantara ketiga antibiotik tersebut. Hal ini diduga terjadi karena pengaruh cara kerja antibiotik yang berbeda sehingga menimbulkan afinitas yang berbeda pula.

Kesimpulan: Perbedaan urutan asam amino PBP2a tidak mempengaruhi resistensi bakteri. Resistensi diduga akibat ekspresi PBP2a yang berlebihan pada MRSA. Afinitas suatu antibiotik terhadap PBP2a bergantung pada sifat dan mekanisme kerja antibiotik tersebut.

Kata Kunci : *Penicillin binding protein 2a*, MRSA, *Staphylococcus aureus*, Afinitas, asam amino.

*Korespondensi : dr. H. R. M. Hardadi Airlangga, Sp.PD

MT. Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145 Tel. (0341) 558959

e-mail : wisudawardana@gmail.com

Comparison of *Penicillin Binding Protein 2a* Amino Acid Sequence and the Affinity in *Staphylococcus aureus* and *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* by *in silico* Method

Yorda Liosa Aditama, Sasi Purwanti, Hardadi Airlangga*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) has the *Penicillin binding protein 2a* (PBP2a) receptor protein which causes resistance to penicillin antibiotics. *Staphylococcus aureus* also has PBP2a, but is still sensitive to antibiotics. *Penicillin binding protein 2a* on *Staphylococcus aureus* and MRSA is thought to have different amino acid sequences. Comparative studies of affinity and amino acid sequences have not been carried out, so it is necessary to study more deeply the causes of resistance.

Method: Descriptive research using *Multiple Sequence Alignment (in silico)* and *Molecular docking* techniques put on the *Jalview 2.11.1.3* 2020 application and the *dockingserver.com* website. Then the results are tabulated and analyzed.

Result: The amino acid sequences of *Staphylococcus aureus* and MRSA have 96,1% similarity and 3,9% difference which is suspected to be due to mutations. In addition, the molecular docking of 18 antibiotics to PBP2a showed the best affinity was daptomycin, vancomycin and the worst was doxycycline. The affinity levels for the remaining 15 antibiotics are between the three antibiotics. This is thought to have occurred due to the different mechanism of action on antibiotics, giving rise to different affinity.

Conclusion: The difference in the PBP2a amino acid sequence does not affect bacterial resistance. Resistance is thought to be due to overexpression of PBP2a in MRSA. The antibiotic affinity for PBP2a depends on mechanism of action and physical property.

Keyword: *Penicillin binding protein 2a*, MRSA, *Staphylococcus aureus*, Affinity, Amino Acid.

*Corresponding author : dr. H. R. M. Hardadi Airlangga, Sp.PD

MT. Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145 Tel. (0341) 558959

e-mail : wisudawardana@gmail.com

PENDAHULUAN

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) muncul pertama kali sekitar akhir tahun 1950 sampai awal 1960, dan terus menyebar ke seluruh dunia.¹⁶ Prevalensi infeksi oleh MRSA karena nosokomial di wilayah Asia seperti Jepang dan Singapura mencapai lebih dari 50% pasien rumah sakit sedangkan di wilayah Amerika, Australia, beberapa negara Eropa berkisar antara 25-50%. Pada tahun 2010, prevalensi MRSA di Hongkong dan Indonesia diperkirakan mencapai 28% dan di Korea mencapai 70% pasien.¹⁵ Penerapan Program Pengendalian Resistensi Antimikroba (PPRA), gagal mengendalikan MRSA sehingga prevalensinya tetap tinggi.¹² *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* lebih berbahaya dibandingkan *Staphylococcus aureus* terbukti dengan angka kematian yang 64% lebih tinggi.²

Penyebab resistensi MRSA diduga adalah *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a), salah satu protein unik *Staphylococcus aureus* dan MRSA.¹⁶ Protein ini tidak termasuk dalam PBP normal dan memiliki tingkat afinitas yang rendah terhadap antibiotik penicillin. Oleh karena itu, sintesis dinding sel peptidoglikan pada MRSA tetap terjadi meskipun telah terpapar penicillin dengan konsentrasi yang dapat mematikan bakteri.¹⁴ *Staphylococcus aureus* normal memiliki PBP2a, namun tidak menyebabkan resistensi terhadap antibiotik. *Penicillin Binding Protein 2a* memberikan dampak resistensi bila terjadi ekspresi yang berlebihan oleh gen yang mengatur PBP2a yaitu *mecA*. Hal ini diduga karena adanya mutasi kromosom.³

Resistensi MRSA terhadap beberapa antibiotik diduga karena tingkat afinitas antibiotik terhadap reseptor *Penicillin Binding Protein* yang berbeda-beda.^{5,8} Selain itu, keterlibatan PBP2a dengan urutan asam amino yang berbeda antara MRSA dengan *Staphylococcus aureus* diduga memberikan dampak perbedaan tingkat resistensi. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari perbedaan urutan asam amino dan tingkat afinitas antibiotik pada *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a) antara *Staphylococcus aureus* dengan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Penelitian tentang perbandingan afinitas dan urutan asam amino belum pernah dilakukan sehingga perlu diteliti untuk mempelajari penyebab resistensi lebih dalam.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasi *Molecular Docking* dan juga *Multiple Sequence Alignment (in silico)* dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan afinitas antibiotik serta perbandingan urutan asam amino antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang terfokus pada *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a).

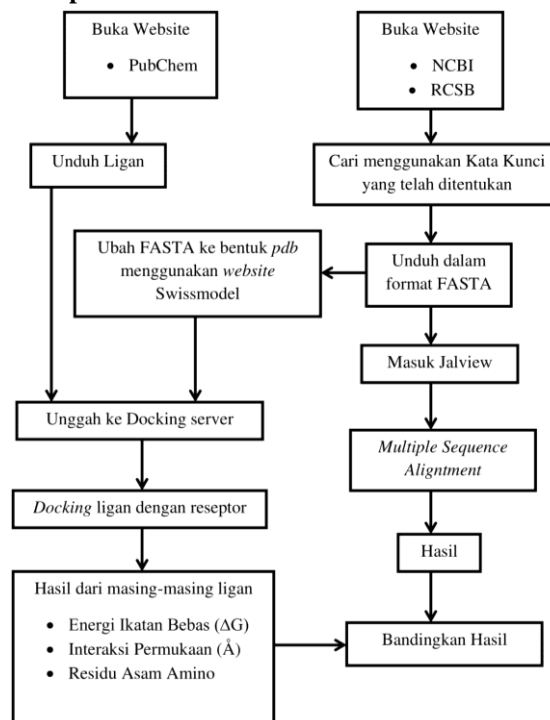
Waktu Penelitian

Waktu yang dibutuhkan dalam penelitian ini diperkirakan mulai bulan November sampai bulan Desember 2020.

Instrumen Penelitian

Struktur antibiotik untuk terapi infeksi *Staphylococcus aureus* sebagai ligan yang didapatkan dari PubChem. Struktur protein target yang digunakan adalah protein reseptor dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA yang diperoleh dari www.ncbi.nlm.nih.gov dan rcsb.org. Perangkat keras komputer dengan spesifikasi RAM 3890 MB, Intel ® Pentium ®, CPU 847 @1.10 GHz, Sistem operasi Microsoft Windows 7 Ultimate, koneksi internet, *Jalview 2.11.1.3. version software*, dockingserver.com, swissmodel.expasy.org

Tahap Penelitian



Analisis Data

Hasil uji *in silico Multiple Sequence Alignment* melihat kemiripan dan perbedaan antara urutan asam amino *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a) *Staphylococcus aureus* dengan MRSA. Kemiripan dan perbedaan ini dilihat dari urutan asam amino yang membentuk *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a). Aplikasi Jalview akan menampilkan warna pada asam amino yang sama, sedangkan asam amino yang berbeda akan ditampilkan tanpa warna.

Selain *Multiple Sequence Alignment*, hasil penelitian ini juga menggunakan teknik *Molecular Docking* untuk menilai afinitas yang dipresentasikan oleh beberapa parameter yaitu energi ikatan bebas (ΔG), interaksi permukaan (\AA), dan residu asam amino antara ligan dan protein reseptor. Parameter-parameter ini menunjukkan seberapa kuat ikatan yang terbentuk oleh ligan dan protein target, semakin rendah nilai energi ikatan bebas maka semakin baik pula afinitasnya. Sedangkan interaksi permukaan berbanding terbaik

dengan nilai energi ikatan bebas, sehingga semakin besar nilai interaksi permukaan maka semakin besar afinitasnya.

HASIL PENELITIAN

Hasil analisa data Perbandingan Urutan Asam Amino PBP2a antara *Staphylococcus aureus* dengan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* melalui *Multiple Sequence Alignment*

Hasil identifikasi Perbandingan urutan asam amino *Penicillin Binding Protein 2a* antara *Staphylococcus aureus* dengan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* menunjukkan kemiripan sekitar 96,1% dan perbedaan sekitar 3,9% pada urutan asam amino MKKIKIVPLILIVVVVGFGIYFYASK. Metode *Multiple Sequence Alignment* pada penelitian ini menggunakan aplikasi *Jalview* dan menghasilkan perbandingan yang dilampirkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisa data Perbandingan Urutan Asam Amino antara *Staphylococcus aureus* dengan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* melalui *Multiple Sequence Alignment*

Strain Bakteri	Urutan Asam Amino
<i>Staphylococcus aureus</i>	<p> MKKIKIVPLILIVVVVGFGIYFYASKDKEINNTIDAIEDKNFKQVYKDSSYISKSDNGEVEEMTERPIKIYNSLGVKDINIQD RKIKKVSKNKKRVDAQYKIKTNYGNIDRNVQFNFKEDGMWKLWDHSDVIIPGMQKQDSIHENLKSERGKILDRNN VELANTGTAYEIGIVPKNVSKKDYKAIKELSESIEDYIKQMDQNWVQDDTFVPLKTVKKMDEYLSDFAKKFHLTTN ETESRNYPLGKATSHLLGYVGPINSEELKQKEYKGYKDDAVIGKKGLEKLYDKKLQHEDGYRVTIVDDNSNTIAHTLI EKKKKDKGDIQLTIDAKVQKSIYNNMKNDYSGGTAIHPQTGELLALVSTPSYDVYPFMYGMSNEEYNNKLTEDKKEPL LNKFOITTSFGSTQKILTAMIGLNNKTLDDKTSYKIDGKGWQKDKSWGGYNVTRYEVVNGNIDLKQAISSDNIFAR VALELGSKKFEKGMKKLGVEDIPSDYPFYNAQISNKNLDNEILLADSGYGQGEILINPVQILSIYSALENNGNINAPHL LKDTKNKVWKKNIISKENINLLTDGMQVNVNTHKEDIYRSYANLIGKSGTAELKMKQGETGRQIGWFISYDKDNPN MMAINVKDVQDKGMASYNKISGKVYDELYENGNKKYDIDE </p>
<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	<p> DKEINNTIDAIEDKNFKQVYKDSSYISKSDNGEVEEMTERPIKIYNSLGVKDINIQDRKIKKVSKNKKRVDAQYKIKTNY GNIDRNVQFNFKEDGMWKLWDHSDVIIPGMQKQDSIHENLKSERGKILDRNNVELANTGTAYEIGIVPKNVSKKDY KAIKELSESIEDYIKQMDQNWVQDDTFVPLKTVKKMDEYLSDFAKKFHLTTNETESRNYPLGKATSHLLGYVGPINS EELKQKEYKGYKDDAVIGKKGLEKLYDKKLQHEDGYRVTIVDDNSNTIAHTLIEKKKKDKGDIQLTIDAKVQKSIYNN MKNDYSGGTAIHPQTGELLALVSTPSYDVYPFMYGMSNEEYNNKLTEDKKEPLLNKFOITTSFGSTQKILTAMIGLNNK TLDDKTSYKIDGKGWQKDKSWGGYNVTRYEVVNGNIDLKQAISSDNIFARVALELGSKKFEKGMKKLGVEDIPSDY PFYNAQISNKNLDNEILLADSGYGQGEILINPVQILSIYSALENNGNINAPHLLKDTKNKVWKKNIISKENINLLTDG MQQVNVNTHKEDIYRSYANLIGKSGTAELKMKQGETGRQIGWFISYDKDNPNMMAINVKDVQDKGMASYNKIS GKVYDELYENGNKKYDIDE </p>

Keterangan : Huruf-huruf pada tabel merupakan urutan asam amino yang membentuk PBP2a. Warna kuning adalah tanda perbedaan antara urutan asam amino PBP2a MRSA dengan *Staphylococcus aureus*.

Uji *Molecular Docking* antibiotik terapi *Staphylococcus aureus* terhadap PBP2a MRSA

Pengujian *molecular docking* antibiotik terapi *staphylococcus aureus* dengan protein target menghasilkan beberapa macam hasil, yaitu energi ikatan bebas (ΔG), interaksi permukaan (\AA), dan residu asam amino. Setiap antibiotik memiliki hasil yang berbeda. Berdasarkan *molecular docking* antara amoxicillin sebagai ligan dengan PBP2a MRSA sebagai protein target, menghasilkan nilai energi ikatan bebas sebesar -6,5 kcal/mol, dengan interaksi permukaan sebesar 569,574, dan residu

asam amino yang terbentuk dari ikatan tersebut adalah ikatan *polar* LYS323.

Hasil *Molecular docking* yang dilakukan pada antibiotik lainnya menghasilkan nilai afinitas yang lebih kuat mengikat PBP2a dibandingkan dengan amoxicillin. Antibiotik terbaik yang dilihat dari nilai afinitasnya adalah daptomycin dan vancomycin. Antibiotik ini memiliki nilai energi ikatan bebas yang lebih rendah dan interaksi permukaan yang lebih besar dibandingkan dengan amoxicillin.

Selain hasil terbaik, *molecular docking* pada penelitian ini juga menghasilkan antibiotik yang

memiliki afinitas lebih buruk daripada amoxicillin dalam mengikat PBP2a MRSA. Antibiotik terburuk yang dilihat dari nilai afinitasnya adalah doxycycline. Antibiotik ini memiliki nilai energi

ikatan bebas yang lebih tinggi dan interaksi permukaan yang lebih kecil dibandingkan dengan amoxicillin.

Tabel 2. Hasil Analisa Afinitas Antibiotik Terapi *Staphylococcus aureus* pada PBP2a MRSA melalui *Molecular Docking*

PBP2a MRSA					
No.	Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Kemiripan residu asam amino dengan Amoxicillin
1	Amoxicillin	-6.5	569.574	Polar : LYS323	0
2	Cefazolin	-8.18	622.189	Lain-lainnya : LYS290	0
3	Ceftaroline fosamil	-7.95	713.707	Polar : LYS248 Hydrophobic : PRO365	0
4	Clindamycin	-6.97	691.148	Hydrogen : GLU190 Polar : ASP222 Hydrophobic : LEU225, VAL218, TYR224 Lain-lainnya : ASP227, LYS216	0
5	Dalbavancin	-8.49	900.144	Hydrogen : GLU656 Polar : GLU659, ASN660, ASN662, LYS663, GLU669 Halogen : GLU669 Lain-lainnya : LYS332, LYS335, GLU659	0
6	Daptomycin	-11.3	489.751	Hydrophobic : PRO391, LEU392, LEU393 Kation-Pi : TYR381 Lain-lainnya : TYR381, THR385, GLU390	0
7	Doxycycline	-4.1	514.497	Hydrogen : THR554, LYS555 Polar : ASP496 Lain-lainnya : LYS557, ASP553	0
8	Linezolid	-6.6	696.078	Polar : HIS294, LYS149 Hydrophobic : ALA277, VAL278, TYR273 Lain-lainnya : GLU295, LYS274, ASP296, ASP276, GLN293	0
9	Minocycline	-8.32	572.104	Polar : LYS560 Hydrophobic : TYR559, PRO494 Lain-lainnya : GLU491, LYS561, ASP492	0
10	Oritavancin	-9.4	970.32	Hydrogen : ASP492 Hydrophobic : PRO498 Polar : TYR170, LYS335	0
11	Quinupristin-Dalfopristin	-8.51	885.154	Hydrophobic : TYR170 Lain-lainnya : TYR170, LYS219, LYS220, ASN249, LYS248, LYS335	0
12	Rifampicin	-8.22	1022.326	Hydrogen : ASN261 Polar : ASN261, GLU264 Hydrophobic : PRO259, PHE372, MET376, TYR381 Lain-lainnya : TYR197, TYR256, ASN261, GLU264, LYS281, PHE372	0
13	Sulfamethoxazole	-5.35	617.08	Hydrogen : ASN663, THR400 Polar : TYR345, LYS635, SYR347 Hydrophobic : ILE398, LEU604 Lain-lainnya : SER401, LYS395, GLN608, LYS605, LEU526	0
14	Tedizolid	-7.44	696.32	Halogen : VAL278, GLN293, HIS294 Polar : GLU295, LYS149 Hydrophobic : ALA277 Lain-lainnya : TYR273, LYS274, ASP276	0
15	Telavancin	-5.11	852.899	Lain-lainnya : PRO498 Hydrogen : LEU392 Polar : TYR500, THR399, LYS282	0
16	Tigecycline	-10.19	673.33	Hydrophobic : LEU393, ILE398 Lain-lainnya : GLU390 Hydrogen : SER192, GLU380 Polar : LYS220, LYS216	0
17	Trimethoprim	-5.37	670.922	Hydrophobic : VAL218, LEU225, TYR374, PRO371 Lain-lainnya : LYS219, LEU191, ASP222, ASP368 Hydrogen : GLU240 Polar : GLU151, GLU240, ARG299	0
18	Vancomycin	-10.98	864.093	Hydrophobic : LEU148 Halogen : LYS149 Lain-lainnya : LEU148, LYS149, GLU151, GLU240, ARG299, LYS319	0

Keterangan : Tabel menunjukkan energi ikatan bebas, interaksi permukaan, dan residu asam amino dari hasil *molecular docking*. Beberapa ikatan antar molekul terbentuk dari ligan dengan protein target, ikatan-ikatan ini adalah ikatan *Hydrogen*, *Polar*, *Hydrophobic*, *Halogen*, dan Lain-lainnya (tidak teridentifikasi oleh media *docking*).

Uji *Molecular Docking* antibiotik terapi *Staphylococcus aureus* terhadap PBP2a *Staphylococcus aureus*

Bedasarkan penelitian yang telah dilakukan, *molecular docking* amoxicillin dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* memiliki hasil energi ikatan bebas yang tidak jauh berbeda dengan PBP2a MRSA. Energi ikatan bebas amoxicillin terhadap PBP2a *Staphylococcus aureus* adalah -6,66 kcal/mol, sedangkan interaksi permukaan sebesar 473,357. Residu asam amino yang dihasilkan adalah LEU147.

Antibiotik dengan hasil afinitas terbaik pada *molecular docking* antibiotik terapi *Staphylococcus*

aureus dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* adalah Vancomycin dan Daptomycin. Antibiotik ini memiliki nilai energi ikatan bebas yang lebih rendah dan interaksi permukaan yang lebih besar dibandingkan dengan amoxicillin.

Selain hasil terbaik, *molecular docking* pada penelitian ini juga menghasilkan antibiotik yang memiliki afinitas lebih buruk daripada amoxicillin dalam mengikat PBP2a *staphylococcus aureus*. Antibiotik terburuk yang dilihat dari nilai afinitasnya adalah Doxycycline. Antibiotik ini memiliki nilai energi ikatan bebas yang lebih tinggi dan interaksi permukaan yang lebih kecil dibandingkan dengan amoxicillin.

Tabel 3. Hasil Analisa Afinitas Antibiotik Terapi *Staphylococcus aureus* pada PBP2a *Staphylococcus aureus* menggunakan *Molecular Docking*

PBP2a <i>Staphylococcus aureus</i>					
No.	Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Kemiripan residu asam amino dengan Amoxicillin
1	Amoxicillin	-6.66	473.357	Lain-lainnya : LEU147	0
2	Cefazolin	-8.02	601.981	Polar : PYR380 Hydrophobic : PHE371 Lain-lainnya : TYR255	0
3	Ceftaroline fosamil	-8.36	901.752	Polar : LYS322, LYS319	0
4	Clindamycin	-6.33	566.219	Hydrogen : PRO244 Halogen : LEU245 Lain-lainnya : ASN242, LYS334, ASN338, TYR369, LYS218 Hydrogen : GLU239, ASN307	0
5	Dalbavancin	-7.66	556.162	Polar : HIS143, GLU145, GLU239, ARG298, ASN307 Kation-Pi : HIS143 Lain-lainnya : HIS143, GLU145, GLU239, ASN307	0
6	Daptomycin	-10.32	617.803	Polar : LYS289 Hydrophobic : LEU286, TYR287 Lain-lainnya : LYS267, GLU268, LEU286, TYR287, LYS289, ASP495, LYS556	0
7	Doxycycline	-4.61	579.498	Hydrogen : ASN500, PHE498 Polar : ASP491 Hydrophobic : TYR499, PRO497 Lain-lainnya : ILE492	0
8	Linezolid	-6.27	615.272	Polar : ASN393, TYR366 Hydrophobic : PRO497 Halogen : TYR496, HIS251 Lain-lainnya : GLN396, LYS285, LEU286	0
9	Minocycline	-9.3	683.155	Hydrogen : LYS280, TYR255 Polar : LYS281, GLN396, GLU263 Hydrophobic : LEU286 Lain-lainnya : LYS285	0
10	Oritavancin	-5.62	740.929	Hydrogen : THR167 Polar : THR167, ASN236, GLU237, GLU239 Halogen : THR167, GLU237 Lain-lainnya : THR165, THR167, LYS218, LYS219, GLU237, GLU239, ASN242	0
11	Quinupristin-Dalfopristin	-9.5	931.291	Hydrogen : GLU294, LYS322 Lain-lainnya : LYS289, GLN292, LYS290, LYS319	0
12	Rifampicin	-8.88	825.789	Hydrogen : ASP491, ILE492, PHE498 Polar : TYR287, ASP491, LYS556 Hydrophobic : TYR287, PRO497, LEU550 Lain-lainnya : TYR287, ASP491, PRO493, LYS556	0
13	Sulfamethoxazole	-6.92	537.446	Hydrogen : LYS219, THR216 Polar : ASP367 Hydrophobic : PRO370, TYR369, LEU224 Kation-Pi : TYR373 Lain-lainnya : VAL217, LYS218, LYS215, ASP221	0
14	Tedizolid	-8	763.906	Hydrogen : GLY271 Polar : ASP275, LYS148 Hydrophobic : TYR272, ALA276 Lain-lainnya : GLN292, GLU294, ASP295, VAL277, HIS293, LYS273	0

15	Telavancin	-5.68	1051.592	<i>Hidrogen</i> : ASN377 <i>Polar</i> : LYS188, TYR196, ASN377, GLU378 <i>Hydrophobic</i> : ILE192, TYR196 <i>Kation-Pi</i> : TYR196 <i>Halogen</i> : SAR191, MET375, Lain-lainnya : SAR193, TYR196, LYS215, SER376, ASN377, GLU378	0
16	Tigecycline	-9.83	596.382	<i>Hidrogen</i> : ILE259 <i>Hydrophobic</i> : PRO258 Lain-lainnya : ASN260	0
17	Trimethoprim	-4.17	461.38	<i>Hidrogen</i> : ASP274, TYR269, TYR272, LEU264 Lain-lainnya : LYS265, LYS270 <i>Polar</i> : GLU170, ASN236 <i>Hydrophobic</i> : PRO213, PRO258, VAL277 <i>Kation-Pi</i> : PHE211 Lain-lainnya : GLU170, TRP205, PHE211, PRO213, PRO258, ASP275, VAL277	0
18	Vancomycin	-11.04	935.015		0

Keterangan : Tabel menunjukkan energi ikatan bebas, interaksi permukaan, dan residu asam amino dari hasil *molecular docking*. Beberapa ikatan antar molekul terbentuk dari ligan dengan protein target, ikatan-ikatan ini adalah ikatan *Hidrogen*, *Polar*, *Hydrophobic*, *Halogen*, dan Lain-lainnya (tidak teridentifikasi oleh media *docking*).

PEMBAHASAN

Perbandingan Urutan Asam Amino PBP2a *Staphylococcus aureus* dengan MRSA melalui *Multiple Sequence Alignment*

Penyelarasan urutan asam amino PBP2a antara MRSA dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan kemiripan sekitar 96,1% dan 3,9 %. Perbedaan terdapat pada panjang urutan asam amino, asam amino *Staphylococcus aureus* lebih panjang dibandingkan dengan asam amino MRSA. Perbedaan terdapat pada urutan MKKIKIVPLILIVVVVGFIYFYASK yang tercantum pada Tabel 1. Asam amino ini terdiri dari *methionine* (M), *lysine* (K), *isoleucine* (I), *valine* (V), *proline* (P), *leucine* (L), *glycine* (G), *phenylalanine* (F), *tyrosine* (Y), *alanine* (A), *serine* (S). Meskipun termasuk dalam perbedaan, asam amino diatas tidak sepenuhnya hilang, hal ini dikarenakan masih terdapat asam amino yang sama pada urutan asam amino MRSA.

Terjadinya delesi asam amino ini dapat menyebabkan berkurangnya situs alosterik yang dapat dijangkau oleh antibiotik.⁹ Namun, perbedaan yang sangat sedikit ini dapat dinilai kurang berpengaruh, terbukti pada hasil *molecular docking* didapatkan hasil afinitas yang hampir mirip pada setiap antibiotik meskipun terdapat perbedaan urutan asam amino. Hal ini memunculkan dugaan bahwa PBP2a pada MRSA dan *Staphylococcus aureus* memiliki fungsi yang tidak jauh berbeda. Meskipun PBP2a terdapat pada *Staphylococcus aureus* yang normal, tetapi tetap tidak menimbulkan resistensi.⁶ Hal ini dikarenakan reseptor pengikat antibiotik yang bekerja pada *Staphylococcus aureus* adalah PBP normal yaitu PBP1, PBP2, PBP3, PBP4, sedangkan adanya PBP2a tidak berekspresi secara berlebihan

sehingga tidak sampai menyebabkan resistensi.^{5,6} Oleh karena itu, dugaan penyebab resistensi MRSA tertuju pada aktivasi dari PBP2a yang berbeda dengan *Staphylococcus aureus*.

Penicillin binding protein 2a diatur oleh gen *mecA* yang berekspresi secara berlebihan pada MRSA. Ekspresi yang berlebih ini disebabkan oleh penyisipan elemen IS yaitu *IS1272* atau *IS431* sehingga dapat mengubah konformasi dan juga dapat menghilangkan gen *mecI*. *MecI* adalah gen yang pada *Staphylococcus aureus* yang bekerja menekan ekspresi gen *mecA*, sedangkan pada MRSA gen *mecI* terhapus induksinya sehingga *mecA* menjadi lebih aktif. Oleh karena itu, *Penicillin binding protein 2a* juga ikut berekspresi berlebihan sehingga menyebabkan resistensi.³

Uji *Molecular docking* antibiotik pada PBP2a MRSA dan *Staphylococcus aureus*

Amoxicillin digunakan sebagai kontrol perbandingan karena antibiotik ini banyak digunakan.⁸ Berdasarkan hasil penelitian, antibiotik ini dinilai kurang baik karena memiliki energi ikatan bebas yang lebih tinggi dari nilai acuan. Ikatan amoxicillin dengan PBP2a MRSA memiliki nilai -6,5 kcal/mol dan dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* memiliki nilai -6,66 kcal/mol, sedangkan nilai yang digunakan sebagai acuan adalah -7,0 kcal/mol.¹ Energi ikatan bebas menggambarkan energi untuk melakukan kerja, semakin rendah nilai energi ikatan bebas maka semakin spontan dan stabil ikatan ligan dengan protein target.¹¹

Hasil *Molecular Docking* menunjukkan ikatan antara beberapa antibiotik dengan PBP2a dari MRSA dan *Staphylococcus aureus* yang hampir

sama afinitasnya. Hal ini dapat disebabkan karena kemiripan urutan asam amino PBP2a MRSA dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* yang mencapai 96,1%. Terdapat perbedaan antara kedua urutan PBP2a tersebut, perbedaan ini dapat menyebabkan berkurangnya situs alosterik yang dapat dijangkau oleh antibiotik.⁹ Namun, perbedaan ini sangat sedikit dan dirasa kurang berpengaruh terhadap perbandingan afinitas antibiotik, hal ini disebabkan karena perbedaan hanya 3,9 % saja.

Antibiotik dengan Afinitas Baik

Antibiotik yang memiliki afinitas baik adalah Cefazolin, Cefaroline fosamil, Dalbavancin, Daptomycin, Minocycline, Oritavancin, Quinupristin-Dalfopristin, Rifampicin, Tedizolid, Tigecycline, Vancomycin. Urutan afinitas paling baik adalah Daptomycin dan Vancomycin. Daptomycin memiliki energi ikatan bebas paling kecil pada ikatan PBP2a MRSA (-11,3 kcal/mol) dan paling kecil urutan kedua (-10,32 kcal/mol) setelah vancomycin pada PBP2a *Staphylococcus aureus*. Nilai energi ikatan bebas jauh lebih kecil bila dibandingkan energi ikatan bebas amoxicillin (-6,5 kcal/mol / -6,66 kcal/mol) dan juga nilai acuan yaitu -7,0 kcal/mol. Hasil ini menunjukkan bahwa daptomycin memiliki kestabilan dan spontanitas yang baik. Residu asam amino yang dihasilkan dari *molecular docking* daptomycin dengan PBP2a MRSA adalah PRO391, LEU392, LEU393, TYR381, TYR381, THR385, GLU390. Sedangkan residu asam amino dari *molecular docking* daptomycin dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* adalah LYS289, LEU286, TYR287, LYS267, GLU268, LEU286, TYR287, LYS289, ASP495, LYS556.

Daptomycin bekerja pada membran sel sehingga menyebabkan gangguan integrasi membran dan kebocoran ion. Kandungan amfifilik dalam daptomycin berikatan dengan protein target sehingga membentuk ikatan hidrofobik.¹⁰ Amfifilik adalah sifat hidrofobik dan hidrofilik yang terdapat dalam satu molekul.¹³ Peneliti menduga kandungan hidrofobik dalam daptomycin yang membuat tingkat afinitas menjadi baik saat *molecular docking* terhadap PBP2a dilakukan.

Vancomycin memiliki hasil yang hampir sama baiknya dengan daptomycin dalam mengikat PBP2a. Hal ini ditunjukkan pada hasil *Molecular docking* vancomycin dengan PBP2a MRSA yang menjadi antibiotik dengan afinitas terbaik kedua

setelah daptomycin, sedangkan *Molecular docking* dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* menjadi antibiotik dengan afinitas terbaik dengan urutan pertama. Residu asam amino yang dihasilkan dari *molecular docking* vancomycin dengan PBP2a MRSA adalah GLU240, GLU151, GLU240, ARG299, LEU148, LYS149, LEU148, LYS149, GLU151, GLU240, ARG299, LYS319. Sedangkan residu asam amino dari *molecular docking* vancomycin dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* adalah GLU170, ASN236, PRO213, PRO258, VAL277, PHE211, GLU170, TRP205, PHE211, PRO213, PRO258, ASP275, VAL277.

Mekanisme aksi vancomycin bekerja di dinding sel dengan mengikat D-alanyl-D-alanine. *Penicillin binding protein 2a* adalah bentuk modifikasi dari D-alanyl-D-alanine transpeptidase yang telah berevolusi.¹ D-alanyl-D-alanine terletak di dinding sel sebagai penghubung *N-acetylmuramic acid* (NAM) dan *N-acetylglucosamine* (NAG) sebagai komponen dinding sel.⁴ Hasil afinitas yang baik dari *molecular docking* vancomycin dengan PBP2a diduga karena target mekanisme kerja vancomycin yang berada di dinding sel.

Antibiotik dengan Afinitas Buruk

Antibiotik yang memiliki afinitas buruk adalah Amoxicillin, Clindamycin, Daptomycin, Doxycycline, Linezolid, Sulfamethoxazole, Telavancin, Trimethoprim. Urutan afinitas paling buruk adalah Doxycycline. Doxycycline adalah antibiotik yang bekerja pada ribosom. Energi ikatan bebas antara doxycycline dengan PBP2a MRSA adalah -4,1 kcal/mol dan doxycycline dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* adalah -4,61 kcal/mol, hasil afinitas yang lebih buruk dibandingkan dengan amoxicillin dan juga nilai acuan. Hal ini kemungkinan terjadi karena mekanisme kerja doxycycline tidak pada membran atau dinding sel, sehingga tidak dapat mengikat PBP2a dengan baik. Mekanisme kerja doxycycline adalah dengan cara menargetkan subunit ribosom 30S untuk mencegah pengikatan t-RNA ke situs A.⁷ Residu asam amino yang dihasilkan dari *molecular docking* doxycycline dengan PBP2a MRSA adalah THR554, LYS555, ASP496, LYS557, ASP553. Sedangkan residu asam amino dari *molecular docking* doxycycline dengan PBP2a *Staphylococcus aureus* adalah ASN500, PHE498, ASP491, TYR499, PRO497, ILE492.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi *in silico* MSA disimpulkan bahwa perbedaan urutan asam amino PBP2a tidak mempengaruhi resistensi bakteri. Resistensi diduga karena ekspresi PBP2a yang terlalu berlebihan pada MRSA.

Afinitas suatu antibiotik terhadap PBP2a bergantung pada sifat dan mekanisme kerja antibiotik tersebut. Residu asam amino yang dihasilkan berbeda setiap antibiotik, hal ini menunjukkan tempat ikatan ligan dengan reseptor tidak memiliki kemiripan.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, peneliti menyarankan untuk melakukan penelitian lanjutan menggunakan sumber bakteri asli dengan metode *in vitro* dan *in vivo*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Dosen pembimbing, serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alhadrami, H.A.; Hamed, A.A.; Hassan, H.M.; Belbahri, L.; Rateb, M.E.; Sayed, A.M. Flavonoids as Potential anti-MRSA Agents through Modulation of PBP2a: A Computational and Experimental Study. *Antibiotics*. 2020; 9(9):562.
- Annisa, I. Perbandingan Daya Hambat Madu Alami dengan Madu Kemasan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara In Vitro. *Doctoral dissertation, Universitas Andalas*. 2019
- Chancey, S. T., Zähler, D., & Stephens, D. S. Acquired inducible antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria. *Future microbiology*. 2012;7(8), 959–978.
- Chung, H. J., Reiner, T., Budin, G., Min, C., Liong, M., Issadore, D., Lee, H., & Weissleder, R. Ubiquitous detection of gram positive bacteria with bioorthogonal magnetofluorescent nanoparticles. *ACS nano*. 2011;5(11), 8834–8841.
- Fergestad, M. E., Stamsås, G. A., Morales Angeles, D., Salehian, Z., Wasteson, Y., & Kjos, M. Penicillin-binding protein PBP2a provides variable levels of protection toward different β -lactams in *Staphylococcus aureus* RN4220. *Microbiology Open*. 2020;9(8),
- Jorge, A. M. Insights into cell wall synthesis and cell division in *Staphylococcus aureus*. Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa. 2012.
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*. 2017;33(3), 300–305.
- Kistler, J. M., Vroome, C. M., Ramsey, F. V., & Ilyas, A. M. Increasing Multidrug Antibiotic Resistance in MRSA Infections of the Hand: A 10-Year Analysis of Risk Factors. *HAND*. 2019
- Laksono, A., Asnani, A., & Iswanto, P. Interaction of mutant PBP2a and bioactive compounds from Streptomyces with anti-MRSA activities. *In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020 (Vol. 959, No. 1, p. 012031).
- Miller, W. R., Bayer, A. S., & Arias, C. A. Mechanism of Action and Resistance to Daptomycin in *Staphylococcus aureus* and Enterococci. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2016;6(11).
- Purnomo, R. Y. Potensi Antimalaria Senyawa Azadiractin, Gedunin, dan Nimbolide dalam Mengikat PfATP6 dan Menghambat Lactate Dehydrogenase: Studi In silico. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 2019;6(3).
- Putra, M. I. H., Suwanto, S., Loho, T., & Abdullah, M. Faktor Risiko *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada Pasien Infeksi Kulit dan Jaringan Lunak di Ruang Rawat Inap. *Jurnal Penyakit dalam Indonesia*. 2017;1(1), 3.
- Reiningtyas, R., & Mahreni, M. Biosurfactant. *Eksergi*. 2015;12(2), 12–22.
- Santiago, C., Pang, E. L., Lim, K. H., Loh, H. S., Ting, K. N. Inhibition of penicillin-binding protein 2a (PBP2a) in *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) by combination of ampicillin and a bioactive fraction from *Duabanga grandiflora*. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15, 178.
- Sjahril, R. dan Agus, R. Deteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur. *Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin*. 2018
- Tang, S. S., Apisarnthanarak, A., & Hsu, L. Y. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;78, 3–13